



УДК 615.076.9

DOI: 10.18413/2658-6533-2019-5-2-0-7

О.В. Шаповалова,  
Н.П. Неугодова,  
О.В. Гунар**Практические аспекты анализа фармацевтических субстанций по показателю «бактериальные эндотоксины»**

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»,  
Петровский б-р, д. 8, г. Москва, 127051, Российская Федерация  
Автор для переписки: О.В. Шаповалова ([shapovalova@expmed.ru](mailto:shapovalova@expmed.ru))

**Аннотация**

**Актуальность:** Безопасность – это одно из основополагающих требований, предъявляемых к лекарственным средствам. «Бактериальные эндотоксины» – важнейший показатель безопасности лекарственных средств парентерального применения, обеспечивающий их надлежащее качество. Применение ЛАЛ-теста для определения бактериальных эндотоксинов, позволяет нормировать содержание примесей, вызывающих пирогенную реакцию у пациентов. Оценку данного показателя выполняют согласно требованиям общей фармакопейной статьи (ОФС 1.2.4.0006.15) «Бактериальные эндотоксины» Государственной Фармакопеи ГФ XIII РФ, где приведены общие методические сведения для выполнения анализа лекарственных средств по показателю «Бактериальные эндотоксины». В ОФС 1.2.4.0006.15 отсутствуют подробные рекомендации, включающие условия пробоподготовки образцов, которые значимы при выполнении ЛАЛ-теста, в особенности для фармацевтических субстанций. Это значительно усложняет процедуру определения бактериальных эндотоксинов, особенно в тех случаях, когда субстанции являются водонерастворимыми или обладают мешающими факторами при выполнении ферментативной реакции бактериальных эндотоксинов с ЛАЛ-реактивом. **Цель исследования:** На стадии разработки методик определения бактериальных эндотоксинов в фармацевтических субстанциях рассмотреть основные этапы, способные оказывать влияние на получение достоверной оценки их качества. **Материалы и методы:** Объекты исследования – фармацевтические субстанции даунорубицина гидрохлорида, кальция хлорида гексагидрата, лимонной кислоты (моногидрат), оксалиплатина, рифампицина и стрептомицина сульфата. Для проведения ЛАЛ-теста в модификации гель-тромб использовали ЛАЛ-реактив с чувствительностью 0,03 ЕЭ/мл (где ЕЭ – единицы эндотоксина), контрольный стандарт эндотоксина соответствующий реактиву, вода для ЛАЛ-теста, трис-буфер (трис-гидроксиметиламинометана гидрохлорида), этиловый спирт 96%. **Результаты:** Усовершенствованы методики определения бактериальных эндотоксинов для шести наименований фармацевтических субстанций: теоретически рассчитано и экспериментально апробировано значение нормы предельного содержания бактериальных эндотоксинов. **Заключение:** Оптимизирован процесс пробоподготовки фармацевтических субстанций и разработана процедура устранения влияния мешающих факторов на результаты ЛАЛ-теста.

**Ключевые слова:** бактериальные эндотоксины; гель-тромб тест; фармацевтические субстанции; мешающие факторы

**Для цитирования:** Шаповалова ОВ, Неугодова НП, Гунар ОВ. Практические аспекты анализа фармацевтических субстанций по показателю «бактериальные эндотоксины». Научные результаты биомедицинских исследований. 2019;5(2):62-71. DOI: 10.18413/2658-6533-2019-5-2-0-7

Olga V. Shapovalova,  
Natalia P. Neugodova,  
Olga V. Gunar

**Practical aspects of the analysis of pharmaceutical substances  
by the indicator «bacterial endotoxins»**

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,  
8 Petrovsky Blvd., Moscow, 127051, Russia  
*Corresponding author: Olga V. Shapovalova (shapovalova@expmed.ru)*

**Abstract**

**Background:** Safety is one of the basic medicine requirements. «Bacterial endotoxins» is the most important safety indicator of parenteral drug products, ensuring their proper quality. The use of the LAL test to determine bacterial endotoxins allows us to normalize the content of impurities which cause a pyrogenic reaction for patients. The evaluation of this indicator is carried out according to the requirements of the general pharmacopoeial article (OFS 1.2.4.0006.15) «Bacterial endotoxins» of the State Pharmacopoeia of the GF XIII, where general methodological information is given for performing the analysis of medicines according to the indicator «Bacterial endotoxins». There are no detailed recommendations in the OFS including the conditions for sample preparation, which are significant in the performance of the LAL test, especially for pharmaceutical substances. This greatly complicates the procedure for determining bacterial endotoxins, especially when the substances are water-insoluble or interfere with the enzymatic reaction of bacterial endotoxins with LAL reagents. **The aim of the study:** To consider the main steps that can influence the obtaining of a reliable assessment of their quality at the stage of development of methods for determining bacterial endotoxins in pharmaceutical substances. **Materials and methods:** The study subjects are pharmaceutical substances of daunorubicin hydrochloride, calcium chloride hexahydrate, citric acid (monohydrate), oxaliplatin, rifampicin and streptomycin sulfate. To carry out the LAL test, in the gel-thrombus modification, we used: a LAL reagent with a sensitivity of 0,03 EU / ml (where EU is an endotoxin unit), control standard endotoxin corresponding to the reagent, water for the LAL test, tris buffer (Tris-hydroxymethylaminomethane hydrochloride), ethyl alcohol 96%. **Results:** Methods for the determination of bacterial endotoxins for six pharmaceutical substances have been improved: the theoretical limit value of bacterial endotoxins has been theoretically calculated and experimentally tested. **Conclusion:** The process of sample preparation of pharmaceutical substances has been optimized and the procedure for eliminating the influence of interfering factors on the results of the LAL test has been developed.

**Keywords:** bacterial endotoxins; gel-clot test; pharmaceutical substances; interfering factors

**For citation:** Shapovalova OV, Neugodova NP, Gunar OV. Practical aspects of the analysis of pharmaceutical substances by the indicator «bacterial endotoxins». Research Results in Biomedicine. 2019;5(2):62-71. (In Russian) DOI: 10.18413/2313-8955-2019-5-2-0-7

**Введение.** В настоящее время проблема использования пирогенных субстанций для производства стерильных лекарственных препаратов представляется актуальной с точки зрения обеспечения безопасности их применения [1]. Основным источником пирогенных примесей являются бактериальные эндотоксины (БЭ), определение которых регламентировано требованиями ГФ действующего издания и зарубежных фармакопей ведущих стран мира [2-5].

Фармацевтические субстанции категории микробиологической чистоты 1.2 Б, используемые для производства инъекционных лекарственных препаратов, обязательно должны контролироваться по показателю «Бактериальные эндотоксины» *in vitro* или «Пирогенность» в опытах на кроликах (*in vivo*) [6, 7, 8].

В настоящее время использование экспериментальных животных в контроле качества лекарственных средств сокращено по этическим соображениям (принцип 3R). Кроме того, не все лекарственные средства возможно оценить в испытаниях на пирогенность из-за их физико-химических свойств и фармакологического действия: например, если образец в необходимой тест-дозе оказывает на животных свое прямое фармакологическое, токсическое действие или практически не растворим в воде, что не позволяет получить раствор, пригодный для внутривенного введения [9]. Поэтому в настоящее время, в большинстве случаев, определение пирогенных примесей осуществляют *in vitro*. Это привело к значительному росту числа фармацевтических субстанций, анализируемых по показателю «Бактериальные эндотоксины», и позволило наиболее эффективно и достоверно оценивать их качество с помощью ЛАЛ-теста.

При выполнении ЛАЛ-теста необходимо учитывать возникновение мешающих факторов таких, как хелатирование, денатурация белка, адсорбция эндотоксина которые могут затруднять проведение теста или оказывать влияние на результаты, искажая их [10, 11].

В испытаниях на наличие БЭ наиболее значимым свойством фармацевтических субстанций является растворимость. Для

оценки истинного содержания БЭ в растворе, как правило, следует полностью растворить образец субстанции [12]. В случае если субстанция нерастворима в воде, то для оценки её качества необходимо подобрать соответствующий растворитель и подтвердить возможность его применения в ЛАЛ-тесте. Обычно для растворения водонерастворимых субстанций используют органические растворители, кислоты или щелочи, но для того, чтобы рекомендовать конкретный растворитель, необходимо выяснить степень его влияния на ферментативную реакцию ЛАЛ-реактива и активность эндотоксинов [13].

Поэтому правильно выбранный подход при анализе фармацевтических субстанций позволяет исключить влияние мешающих факторов на результаты ЛАЛ-теста [14, 15, 16].

**Цель исследования:** на стадии разработки методик определения БЭ в фармацевтических субстанциях рассмотреть основные этапы, способные оказывать влияние на получение достоверной оценки их качества.

**Материалы и методы.** Объектами исследования были выбраны фармацевтические субстанции, для анализа которых требовались особые условия для приготовления растворов и оптимизация процедуры пробоподготовки. Все используемые реактивы и материалы соответствовали требованиям ОФС.1.2.4.0006.15 «Бактериальные эндотоксины» [2], то есть не содержали определяемое количество БЭ и не оказывали влияния на реакцию гелеобразования, что подтверждалось сертификатами.

**Объекты исследования:** фармацевтические субстанции даунорубицина гидрохлорида, кальция хлорида гексагидрата, оксалиплатина, лимонной кислоты (моногидрат), рифампицина, стрептомицина сульфата.

**Метод исследования:** ЛАЛ-тест в модификации гель-тромб (Методы А и В).

**Реактивы:** ЛАЛ-реактив с чувствительностью 0,03 ЕЭ/мл (где ЕЭ – единицы эндотоксина), контрольный стандарт эндотоксина соответствующий реактиву, вода для ЛАЛ-теста, трис-буфер (трис-гидроксиметиламинометана гидрохлорида).

**Используемое оборудование:** Сухо-воздушный нагревательный прибор для инкубации при температуре 37°C, автоматические дозаторы с переменным объемом 20–200 мкл и 100–1000 мкл, встряхиватель (вихревая мешалка), рН – метр, секундомер, штативы для пробирок.

**Материалы:** Наконечники для автоматических дозаторов, круглодонные пробирки с диаметром 13 мм и 10 мм.

Перед проведением испытания подтверждали пригодность реактивов, условий для проведения анализов и квалификацию экспериментатора. Затем приступали непосредственно к выполнению испытаний.

**Результаты и обсуждение.** Для каждого наименования фармацевтической субстанции рассчитывали норму предельного содержания БЭ. Расчёт выполняли с учетом международных требований и указаний инструкций по медицинскому применению лекарственного препарата, для производства которого используется субстанция. Полученные рассчитанные величины сравнивали с нормами предельного содержания БЭ на аналогичные лекарственные средства в ведущих фармакопеех мира [3, 4, 5] (таблица 1).

Для трёх наименований субстанций (даунорубин гидрохлорид, кальция хлорид гексагидрат и стрептомицин сульфат) рассчитанные величины норм предельного содержания БЭ отличались от общепринятых значений зарубежных фармакопей, поэтому были приняты те нормы, которые предъявляют более жёсткие требования к их качеству.

Готовили основные растворы с концентрацией, близкой или равной содержанию исследуемой субстанции в лекарственной форме препарата. При этом особое внимание уделяли образцам субстанций:

— с градациями растворимости «Умеренно растворим», «Мало растворим», «Очень мало растворим», «Практически не растворим»;

— с содержанием влаги более чем 2 %;  
с количественным содержанием активного вещества менее 90% (таблица 2).

Для малорастворимых и не растворимых субстанций подбирали оптимальные условия растворения в воде для ЛАЛ-теста или другой растворитель (таблица 3).

Таблица 1

# Сравнение рассчитанных величин с нормами зарубежных фармакопей

Table 1

## Comparison of the calculated values with the norms of foreign pharmacopoeias

№	Наименование фармацевтической субстанции	Рассчитанное значение предельного содержания БЭ (ЕЭ/мг)	Нормы предельного содержания БЭ в фармакопеех (ЕЭ/мг)
1	Даунорубин гидрохлорид	<b>1,0</b>	4,3
2	Кальция хлорид гексагидрат	0,35	<b>0,2</b>
3	Лимонная кислота моногидрат	<b>0,5</b>	<b>0,5</b>
4	Оксалиплатин	<b>1</b>	<b>1</b>
5	Рифампицин	<b>0,5</b>	<b>0,5</b>
6	Стрептомицин сульфат	0,35	<b>0,25*</b>

Примечание: Жирным шрифтом выделены значения, принятые для дальнейших испытаний  
Note: Values for further testing are highlighted in bold.

Таблица 2

**Значимые физико-химические свойства субстанций в испытаниях ЛАЛ-теста**

Table 2

**Significant physical and chemical properties of substances in the LAL test**

Наименование фармацевтической субстанции	Максимальное значение потери в массе при высушивании (%)	Количественное содержание активного вещества (%)	Растворимость в воде
Даунорубин гидрохлорид	4	-	-
Кальция хлорид гексагидрат	50	-	-
Лимонная кислота моногидрат	9	-	-
Оксалиплатин	-	-	Малорастворим в воде
Рифампицин	-	-	Не растворим в воде
Стрептомицина сульфат	5	73	-

Таблица 3

**Условия растворения в воде труднорастворимых субстанций**

Table 3

**Conditions for the dissolution of low-solubility substances in water**

Наименование фармацевтической субстанции	Условия растворения	Растворитель
Оксалиплатин	В большом объеме воды для ЛАЛ-теста (10 мг в 10 мл воды для ЛАЛ-теста)	Вода для ЛАЛ-теста
Рифампицин	Активное перемешивание	Этиловый спирт 96%

Возможность использования спирта этилового 96% в качестве растворителя для субстанции рифампицина подтверждали в предварительных испытаниях, где оценивали его влияние на активность БЭ, а также ферментативную реакцию ЛАЛ-реактива.

Проводили измерение pH основных водных растворов фармацевтических субстанций. Для двух наименований субстанций отмечены значительные отклонения от оптимального диапазона 6-8 (таблица 4).

Качественный анализ (метод А) выполняли для определения соответствия испытуемых образцов субстанций установленной норме предельного содержания БЭ. Для этого анализировали основные растворы субстанций в максимально допустимом разведении. Затем на основании полученных результатов проводили следующие испытания – «Количественный анализ» (метод В), где оценивали влияние мешающих факторов и истинное содержание БЭ (таблица 5).



Таблица 4

**Субстанции со значениями pH основных водных растворов вне рекомендуемого диапазона ферментативной реакции ЛАЛ-реактива**

Table 4

**Substances with the pH values of the main aqueous solutions outside the recommended range of the enzymatic reaction of the LAL reagent**

Наименование фармацевтической субстанции	Концентрация раствора (мг/мл)	Значения pH
Лимонная кислота моногидрат	100	1,5 – 1,8
Стрептомицин сульфат	250	4,5 – 7,0

Таблица 5

**Результаты количественного анализа основных растворов фармацевтических субстанций с использованием ЛАЛ-реактива чувствительностью 0,03 ЕЭ/мл**

Table 5

**The results of a quantitative analysis of the main solutions of pharmaceutical substances using a LAL reagent with sensitivity 0,03 EU/ml**

Наименование и концентрация основного раствора субстанции	МДР	P <sub>м</sub>	Установленная норма содержания БЭ (менее, ЕЭ/мг)	Обнаруженное содержание БЭ (менее, ЕЭ/мг)
Даунорубин гидрохлорид, 20 мг/мл	640	16	1,0	0,025
Кальция хлорид гексагидрат, 50 мг/мл	320	4	0,2	0,0025
Лимонная кислота моногидрат, 100 мг/мл	1600	64	0,5	0,02
Оксалиплатин, 1 мг/мл	32	2	1,0	0,06
Рифампицин, 5 мг/мл	80	20	0,5	0,125
Стрептомицин Сульфат, 250 мг/мл	2000	500	0,25	0,06

Примечание: МДР – максимально допустимое разведение; P<sub>м</sub> – кратность разведения, в котором не наблюдается влияние мешающих факторов.

Note: МДР – the maximum allowable dilution; P<sub>м</sub> – the multiplicity of dilution in which the influence of interfering factors is not observed.

Основные растворы субстанций пяти наименований (все кроме оксалиплатина) обладали мешающими факторами: ингибировали реакцию гелеобразования с ЛАЛ-реактивом.

Устраняли мешающие факторы исследуемых растворов одним из двух способов:

1) приготовлением испытуемых растворов субстанций с большим разведением (но не более 1/2 МДР), где после смешивания с ЛАЛ-реактивом достигался оптимальный диапазон значений pH.

2) использованием растворов для коррекции pH (буферные растворы, кислоты, щелочи) при разведении основного раствора субстанции.

Так, например, основной раствор лимонной кислоты разбавляли буферным раствором трис-гидроксиметиламинометана гидрохлорида, что позволило оценить качество данной субстанции в меньшем разведении образца.

На основании полученных данных количественного анализа выбирали рабочее

разведение для каждого наименования фармацевтической субстанции, предъявляя следующие требования:

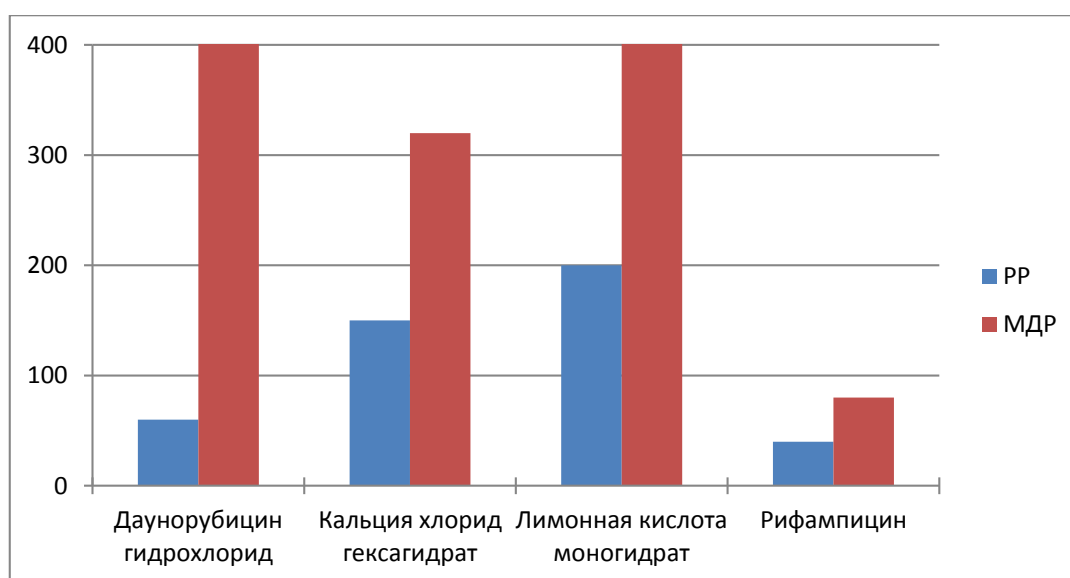
1) по результатам предварительного анализа «Мешающие факторы» (ОФС «Бактериальные эндотоксины») основной раствор субстанции, в выбранном разведении, не должен содержать БЭ и обладать ингибирующим или потенцирующим действием на реакцию гелеобразования с ЛАЛ-реактивом [2];

2) кратность разведения должна быть в 2 раза меньше максимально допустимого

разведения (МДР), то есть равно  $\frac{1}{2}$  МДР или менее этой величины.

В результате проведенного анализа «Мешающие факторы» были валидированы рабочие разведения основных растворов субстанций для испытаний по показателю «Бактериальные эндотоксины».

Во всех случаях рабочие разведения были значительно меньше МДР, а для двух наименований кратность разведения основного раствора отличалась от МДР более чем в 10 раз (рисунок).



PP – рабочее разведение;

МДР – максимально допустимое разведение

PP – working dilution;

МДР – the maximum allowable dilution

Рис. Сравнение кратностей разведений для основных растворов фармацевтических субстанций

Fig. Comparison of dilutions for basic solutions of pharmaceutical substances

Благодаря выполненной оптимизации процедуры пробоподготовки испытуемых фармацевтических субстанций, представленной в таблице 6, рекомендованы валидированные рабочие разведения основных

растворов субстанций для определения реального содержания БЭ и оценки прецизионности (повторяемости) результатов испытаний по показателю «Бактериальные эндотоксины».

Таблица 6

**Оптимизация процедуры пробоподготовки фармацевтических субстанций**

Table 6

**Optimization of the procedure for sample preparation of pharmaceutical substances**

Наименование фармацевтической субстанции	Учёт содержания в 1 мг субстанции		Особые условия растворения или другой растворитель	Устранение мешающих факторов с помощью разведений	
	влаги	активного вещества		в воде для ЛАЛ-теста	буферного раствора
Даунорубин гид-хлорид	+	–	–	+	–
Кальция хлорид гексагидрат	+	–	–	+	–
Лимонная кислота моногидрат	+	–	–	–	+
Оксалиплатин	–	–	+	–	–
Рифампицин	–	–	+	+	–
Стрептомицин сульфат	+	+	–	+	–

Примечание: «+» – выполняемые действия

Note: «+» – performed actions

**Заключение**

Основными этапами процесса определения БЭ в фармацевтических субстанциях, влияющими на получение достоверных результатов испытаний являются:

- 1) расчёт и обоснование нормы предельного содержания БЭ;
- 2) приготовление основного раствора субстанции;
- 3) оценка наличия мешающих факторов в испытуемом образце с последующим их устранением.

Для расчета значения предельного содержания БЭ в фармацевтической субстанции используют формулу, приведенную в статье ОФС «Бактериальные эндотоксины», и максимальные дозы, указанные в инструкции по медицинскому применению на лекарственный препарат, для производства которого используется субстанция. Рассчитанное значение сравнивают с нормами, заявленными в монографиях зарубежных фармакопей, и выбирают наименьшую величину содержания БЭ.

На стадии пробоподготовки учитывают содержание влаги и активного вещества.

В случае если образцы субстанции мало растворимы в воде, для приготовления основного раствора подбирают оптимальные условия растворения: нагревание и активное перемешивание, растворение в большом количестве воды для ЛАЛ-теста. Водонерастворимую субстанцию растворяют в соответствующем растворителе, использование которого, изучено в предварительных анализах с оценкой влияния на активность БЭ и реакцию с ЛАЛ-реактивом. Так, например, применение этилового спирта 96% в качестве инертного растворителя для БЭ многократно подтверждено испытаниями и рекомендовано для субстанции рифампицина в фармакопейной статье (ФС.2.10032.15) ГФ XIII [2].

Устранить мешающие факторы позволяет разведение основного раствора фармацевтической субстанции водой для ЛАЛ-теста вплоть до кратности максимально допустимого разведения. В других случаях необходимо использование буферных растворов, щелочей или кислот.

Оптимизация процедуры пробоподготовки субстанций на стадии разработки ме-



тодики определения БЭ позволяет упростить выполнение рутинного контроля. Таким образом, усовершенствованные методики определения БЭ в фармацевтических субстанциях способствуют получению достоверных и надежных результатов, которые в свою очередь, гарантируют безопасное применение лекарственных препаратов пациентами без риска возникновения пирогенной реакции.

*В отношении данной статьи не было зарегистрировано конфликта интересов.*

### Список литературы

1. Неугодова Н.П., Долгова Г.В., Ситников А.Г. Основные положения общей фармакопейной статьи Бактериальные эндотоксины // ЛАЛ-тест. 2002. N 1. С.1-5.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издания. Том 1. М.: ФЭМБ, 2015. 1469 с.
3. British Pharmacopoeia. London, 2017.
4. European pharmacopoeia, 9th ed. 2017.
5. The United States Pharmacopoeia, 40th ed. 2017.
6. Лавренчук Р.А., Сакаева И.В., Саканян Е.И. Контроль качества лекарственных форм для парентерального применения: современное состояние // Вестник Научного Центра Экспертизы Средств Медицинского Применения. 2012. N 2. С. 40-42.
7. Правила составления, изложения и оформления нормативной документации на фармацевтические субстанции. Методические рекомендации / А.Н. Миронов [и др.]. М., 2009. 68 с.
8. Митькина Л.И., Шпрах З.С., Ковалева Е.Л. Лекарственные средства для парентерального применения // Фармация. 2011. N 1. С. 3-5.
9. Альтернативные биологические методы оценки качества лекарственных средств / О.В. Шаповалова [и др.] // Фармация. 2017. N 2. С. 7-10.
10. Bioprocess Online [Electronic]: Testing of Parenteral Products: Evolution & Challenges. URL: <https://www.bioprocessonline.com/doc/the-lal-assay-for-pyrogen-testing-of-parenteral-products-evolution-challenges-0001> (дата обращения: 18.01.2018).
11. Dawson M.E. An Interference with the LAL test and how to address it // LALUpdate. 2005. Vol. 22(3). 6 p.
12. Williams K.L. Endotoxins Pyrogens, LAL Testing and Depyrogenation third Edition (Drugs

and the Pharmaceutical Sciences). CRC Press., 2007. 419 p.

13. Использование органических растворителей для определения показателя «Бактериальные эндотоксины» в фармацевтических субстанциях, нерастворимых в воде / О.В. Шаповалова [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. 2013. N 58. С. 41-44.

14. Влияние мешающих факторов и подходы к их устранению при определении бактериальных эндотоксинов в лекарственных средствах / О.В. Шаповалова, Н.П. Неугодова, Г.А. Сапожникова, А.А. Агаширинова, О.В. Гунар // Фармация. 2017. N 6. С. 9-14.

15. Good Manufacturing Practices (GMP) Guidelines for Active.

16. Pharmaceutical Ingredients (APIs) GUI-0104. 2013. 95 p.

### References

1. Neugodova NP, Dolgova GV, Sitnikov AG. [Main provisions of the general pharmacopoeial article Bacterial endotoxins]. LAL-test. 2002;1:1-5. Russian.
2. [The State Pharmacopoeia of the Russian Federation III ed. Tom 1]. Moscow: FEMB; 2015. 1469 p. Russian.
3. British Pharmacopoeia. London; 2017.
4. European pharmacopoeia, 9th ed; 2017.
5. The United States Pharmacopoeia, 40th ed; 2017.
6. Lavrenchuk RA, Sakayeva IV, Sakanyan EI. [Quality control of dosage forms for parenteral use: current state]. Vedomosti Nauchnogo Tsentra Ekspertizy Sredstv Meditsinskogo Primeneniya. 2012;2:40-42. Russian.
7. Mironov AN, Sakayeva IV, Bunyatyan ND, et al. [Rules for the compilation, presentation and processing of regulatory documentation for pharmaceutical substances. Methodical recommendations]. Moscow; 2009. Russian.
8. Mitkina LI, Shprakh ZS, Kovaleva EL. [Medicinal products for parenteral use]. Farmatsiya. 2011;1:3-5. Russian.
9. Shapovalova OV, Neugodova NP, Ryabtseva MS, et al. [Alternative biological methods for assessing the quality of medicines]. Farmatsiya. 2017;2:7-10. Russian.
10. Bioprocess Online. Testing of Parenteral Products: Evolution & Challenges [Internet]. [cited 2018 January 18]. Available from: <https://www.bioprocessonline.com/doc/the-lal-assay-for-pyrogen-testing-of-parenteral-products-evolution-challenges-0001>.

11.Dawson ME. An Interference with the LAL test and how to address it. LALUpdate. 2005;22(3):6.

12.Williams KL. Endotoxins Pyrogens, LAL Testing and Depyrogenation third Edition (Drugs and the Pharmaceutical Sciences). CRC Press; 2007. 419 p.

13.Shapovalova OV, Neugodova NP, Sapozhnikova GA, et al. [Influence of interfering factors and approaches to their elimination in the determination of bacterial endotoxins in medicines]. Farmatsiya. 2017;6:9-14. Russian.

14.Shapovalova OV, Dolgova GV, Neugodova NP, et al. [Use of organic solvents to determine the indicator «Bacterial endotoxins» in pharmaceutical substances that are insoluble in water]. Antibiotiki i khimioterapiya. 2013;58:41-44. Russian.

15.Good Manufacturing Practices (GMP) Guidelines for Active.

16.Pharmaceutical Ingredients (APIs) GUI-0104; 2013. 95 p.

#### Информация об авторах

**Ольга Владимировна Шаповалова**, кандидат фармацевтических наук, ведущий эксперт лаборатории фармакологии, ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», E-mail: shapovalova@expmed.ru, ORCID: 0000-0003-0305-7769, Researcher ID: C-5697-2018.

**Наталья Петровна Неугодова**, кандидат биологических наук, начальник лаборатории фармакологии, ФГБУ «Научный центр экспертизы

средств медицинского применения», ORCID: 0000-0001-8615-952X, Researcher ID: C-1516-2018.

**Ольга Викторовна Гунар**, доктор фармацевтических наук, начальник лаборатории микробиологии, ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», ORCID: 0000-0002-4825-8356, Researcher ID: B-6134-2018.

#### Information about the authors

**Olga V. Shapovalova**, Candidare of Pharmaceutical Sciences, leading expert, Laboratory of Pharmacology, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, E-mail: shapovalova@expmed.ru, ORCID: 0000-0003-0305-7769, Researcher ID: C-5697-2018.

**Natalia P. Neugodova**, Candidare of Biological Sciences, Head of Laboratory of Pharmacology, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, ORCID: 0000-0001-8615-952X, Researcher ID: C-1516-2018.

**Olga V. Gunar**, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Head of Laboratory of Microbiology, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, ORCID: 0000-0002-4825-8356, Researcher ID: B-6134-2018.

Статья поступила в редакцию 23 декабря 2018 г.  
Receipt date 2018 December 23.

Статья принята к публикации 12 марта 2019 г.  
Accepted for publication 2019 March 12.